

인삼 중 Clothianidin 및 Thiacloprid의 생산단계 농약잔류허용기준 설정

나은식¹ · 이용재¹ · 김경주¹ · 김성수¹ · 이규승^{2*}

¹(주)한국인삼공사 안전성연구소, ²충남대학교 농업생명과학대학 생물환경화학과

Establishment of Pre-Harvest Residue Limits of Clothianidin and Thiacloprid in Ginseng

Eun-Shik Na¹, Yong-Jae Lee¹, Kyoung-Ju Kim¹, Seong-Soo Kim¹ and Kyu-Seung Lee^{2*}

¹Korea Ginseng Corp. Safty Evaluation Department

²Department of Bio Environmental Chemistry, Chungnam National University, Daejeon 305-761. Korea.

(Received on June 24, 2013. Revised on July 30, 2013. Accepted on August 12, 2013)

Abstract The residue patterns of clothianidin and thiacloprid, insecticides registered in the ginseng, were investigated to predict pre-harvest residues limits (PHRL). Pesticides were treated under Korea GAP (Good Agricultural Practices) with the recommended dose (single dose) and twice of recommended dose (double dose). Samples were collected 11 times over 42 days (each 0, 2, 5, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 33, 42 days after treatment). Residues of clothianidin and thiacloprid were analyzed by UPLC/TQD. Biological half-life of clothianidin in single dose and double dose were 14.6 days and 10.2 days and that of thiacloprid were also 9.7 days and 11.2 days, respectively. The PHRL of ginseng on 10 days before harvest was 0.3 mg/kg in clothianidin and 0.18 mg/kg in thiacloprid.

Key words Biological half-life, Clothianidin, Pre-harvest residue limit (PHRL), Thiacloprid

서 론

농약은 병해충으로부터 농작물을 보호하여 품질 향상 및 생산성 증대를 목적으로 사용된다. 그러나 농작물에 살포된 농약은 일정기간 작물체에 잔류하여 약효를 지속시키는 반면 생산물에 잔존되어 식품의 오염원이 되기도 한다. 이러한 농약이 잔류된 농산물 섭취는 건강상의 문제가 발생될 수 있기 때문에 농약을 등록할 때에 대상 작물과 사용 시기, 사용량, 그리고 횟수 등에 대한 안전사용기준이 설정 되어 있다. 또한, 소비자의 안전을 위하여 유통되는 농산물에 잔류하는 농약의 양을 법으로 정한 농작물 중 농약잔류허용기준(Maximum Residue Limit; MRL)을 설정하여 국제적 수준에서는 물론, 국가차원에서도 관리 감독하고 있으며, 2013년 2월 18일 현재 428종의 농약에 대해 잔류허용기준이 설정되어 있다(식품의약품안전처, 2013). 시중에 출하되

는 농산물은 농약의 잔류허용기준에 따라 안전성조사를 수행하고 있으나, 잔류허용기준을 초과한 농산물은 전량 회수 및 폐기처분하게 되고 이러한 결과는 농산물의 생산비와 유통비용은 물론 그 처리비용으로 인하여 농민에게 막대한 손실을 입히게 된다. 또한 수확 후 유통판매 중의 안전성조사는 최종 소비 전에 분석결과를 알기 어렵고, 분석결과 부적합 판정이 나더라도 유통될 가능성이 있다. 그러므로 부적합 농산물의 유통을 차단하기 위해서는 생산단계에서의 잔류량을 예측하고 농약의 잔류허용기준을 별도로 설정할 필요성이 있다(Lee 등, 2009; Kim 등, 2002; Ko 등, 2003; Ko 등, 2004). 이에 따라 농림수산식품부에서는 농산물품질관리법 시행규칙 제21조에 의거 생산단계 농산물의 농약 잔류허용기준(pre-harvest residue limit, PHRL)을 설정하였다. 생산단계 농산물의 농약 잔류허용기준은 출하예정일에서 출하 10일전까지 일자별로 설정하고 있다. 1999년 24품목 132개 기준 설정을 시작으로 부적합 발생비율이 높은 품목 위주로 매년 기준을 추가하여 2013년 48품목 774개의 기준이 설정되어 있다(식품의약품안전처, 2013 고시).

인삼의 재배현황은 2011년 국내에서 재배면적(17,601

*Corresponding author

Tel: +82-42-821-6735, Fax: +82-42-822-5781

E-mail: kslee@cnu.ac.kr

ha), 재배 농가수(23,578 호), 산량(26,737 톤), 생산액(9,510 억), 수출량(3,712 톤) 등이 점차 증가하는 추세이며(농림수산식품부, 2011), 수출액이 189 백만불로 단일품목으로는 농산물중 가장 높은 수출액을 나타내 국내에서도 중요한 수출전략품목으로 관리되고 있다(농수산물유통공사, 2011). 인삼에는 2013년 6월 현재까지 68종의 농약에 대해 잔류허용기준이 고시되어 있다. 이 중 27종의 농약에 대한 생산단계 농산물의 농약 잔류허용기준이 고시되어 있어(식품의약품안전처, 2013 고시) 확대가 필요하다.

따라서, 본 연구에서는 인삼에 등록되어 사용되고 있는 살충제인 clothianidin과 thiacloprid의 수확 전 잔류량을 예측하기 위하여 시험 농약을 재배 포장에 살포하여 경시적 농약 잔류 특성을 조사하고 생물학적 반감기 산출하여 시험 농약의 잔류허용기준(MRL)과 비교 평가 후 그 결과를 생산 단계에서의 농약 잔류허용기준을 설정하기 위한 기초 자료로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

시약 및 기구

시험에 사용된 clothianidin (순도 99.5%)과 thiacloprid (순도 98.0%)는 Dr. Ehrenstofer사(독일)로부터 구입하여 시험농약의 표준품으로 사용하였으며, 추출 및 정제를 위해 사용한 acetonitrile, methanol은 Merck사(독일)에서 구입하여 사용하였다.

시험약제

시험에 사용된 clothianidin과 thiacloprid의 물리 화학적 특성은 Table 1과 같다. 재배시 처리한 약제는 시중에서 판매되는 빅카드(clothimidin a.i 8% 액상수화제, 한국삼공(주)),

칼립소(thiacloprid a.i 10% 액상수화제, 바이엘 크롭사이언스(주))를 사용하였다. 시험은 충남 공주시 소재 일반 농가의 인삼(품종 : 자경종) 노지재배지(해가림 설치)에서 수행하였으며 관행재배법에 의거하여 관리하였다. 약제 처리 농도는 안전사용기준에 의거하여 추천농도와 그 배량을 살포하였으며, 각 약제별 안전사용기준은 Table 2와 같다.

시료채취

시료채취는 약제 살포 2시간 후 채취하기 시작하여 42일 동안 총 11회에 걸쳐 1 kg 이상씩 균일한 시료를 무작위로 채취하였다. 이 시료들은 냉동보관 상태에서 실험실로 운반하여 중체량을 조사한 후 시료분쇄기로 균질화 하였다. 각 처리구별 시료는 30 g 씩 정확히 칭량한 후 PE bag으로 밀봉한 후 -20°C 이하에서 보관하여 잔류분석에 이용하였다.

표준검량선 작성

Clothianidin, thiacloprid 표준품을 각각 10.1 mg, 10.2 mg 을 100 mL methanol에 녹여 1,000 mg/L의 표준용액을 조제하였다. 이를 단계별로 희석하여 0.01, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8 및 1.0 mg/L의 작업표준용액을 만든 후 각각 일정량을 초고속액체크로마토그래프 텐덤 사중극자 질량분석기(Ultra Performance Liquid Chromatograph Tandem Quadrupole Mass Detector, UPLC/TQD)에 주입하여 나타난 크로마토그램상의 피크면적을 기준으로 검량선을 작성하였다.

인삼 중의 잔류농약분석

시료추출: 세절한 시료 30 g을 칭량하고 시료를 혼합추출 분쇄기병에 넣고 acetonitrile 90 mL을 넣은 후 분쇄기로 3 분간 균질화 하였다. 여기에 NaCl 10 ~ 15 g을 넣어 30초간 shaking시킨 후 원심분리기를 이용하여 acetonitrile층과 물

Table 1. Characteristic properties of clothianidin and thiacloprid (Tomlin, 2009)

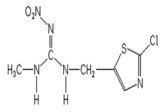
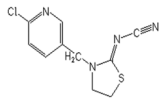
Pesticides	Chemical structure	Molecular Weight	Vapor pressure (mPa)	log Pow	MRL in ginseng (mg/kg)
Clothianidin		247.9	1.3×10^{-7} (25°C)	0.7	0.2
Thiacloprid		252.7	3×10^{-7} (20°C)	1.26	0.1

Table 2. Application guidelines of two pesticides for ginseng

Pesticides	Formulation	AI (%)	Application guideline	
			Dilution	Spray volumn
Clothianidin	SC ^{a)}	8	2000 times	4 L / 16 m ²
Thiacloprid	SC ^{a)}	10	2000 times	4 L / 16 m ²

^{a)} SC, Suspension Concentrate

Table 3. UPLC conditions for the analysis of clothianidin and thicloprid in ginseng

Instrument :	Waters Acquity™ UPLC		
Detector :	Triple quadrupole MS (TQD) detector		
Column :	BEX-C ₁₈ (2.5 m × 100 mm ID, 1.7 μm)		
	Time (min)	A (%)	B (%)
	0	80	20
	1	55	45
	6	20	80
Mobile phase :	8.5	20	80
	8.6	0	100
	11	0	100
	11.1	80	20
	12	80	20
Injection volume :	2 μL		
Flow rate :	0.4 mL/min		
Ionization mode :	ES positive		
Span :	0.2		

Table 4. Analytical condition of the MRM transition of UPLC/TQD

Pesticide	Parent (m/z)	Daughter (m/z)	Dwell (s)	Cone (v)	Collision (v)
Clothianidin	250.0	169.0	0.02	24	12
Thiacloprid	253.0	126.0	0.02	41	20

층을 분리시켰다. 상정액(acetonitrile층) 15 mL를 취하여 질소 농축기를 사용하여 35°C 이하의 수욕조 중에서 질소가스를 통과시켜 농축 후 methanol 2 mL에 재용해하여, syringe filter (0.2 μm) 여과한 후 시험 용액으로 하였다.

기기분석: 시험 용액 2 μL를 주입하여 UPLC-TQD로 분석하였으며, 칼럼은 BEX-C₁₈ (2.5 m × 100 mm ID, 1.7 μm)을 사용하였다(Table 3). 분리용매는 용매 A (0.1% Formic acid in distilled water)와 용매 B (0.1% Formic acid in acetonitrile)를 사용하였으며, MRM (Multiple Reaction Monitoring, Table 4) Method로 분석하였으며, 크로마토그램상의 peak 면적을 측정하여 검량선과 비교하여 정량하였다.

회수율 시험

무처리 인삼 시료 30 g에 각각 시료기준으로 clothianidin은 0.2 mg/kg 및 1.0 mg/kg으로, thiacloprid는 0.5 mg/kg,

2.0 mg/kg이 되도록 처리, 혼화하고 앞서의 분석과정을 행하여 회수율을 산출하였다.

회색효과를 감안한 잔류량 산출

재배기간 동안 인삼의 생장률 변화와 각 일자별 clothianidin 및 thiacloprid의 잔류량과 작물의 생육을 감안한 잔류량 변화는 ‘수확일자별 무게 / 0일차 무게 × 각 일자별 잔류량’를 이용하여 산출하였고, 이를 근거로 잔류감소곡선을 작성하였다.

결과 및 고찰

회수율 및 검출한계

Clothianidin 및 thiacloprid의 회수율은 Table 5와 같다. 검량선의 r²값은 모두 0.997로서 직선성을 나타내었으며, 회수율은 99.1~115.3%, 변이율은 1.1~5.4%였고. thiacloprid의

Table 5. Recovery and detection limit of the analytical method

Pesticide	Fortification (mg/kg)	Recovery ± CV ^{a)} (%)	Limit of detection (ng)
Clothianidin	0.2	108.6 ± 5.4	0.01
	1.0	100.4 ± 1.1	
Thicloprid	0.5	93.4 ± 4.9	0.01
	2.5	91.1 ± 6.2	

^{a)}Coefficient of variation

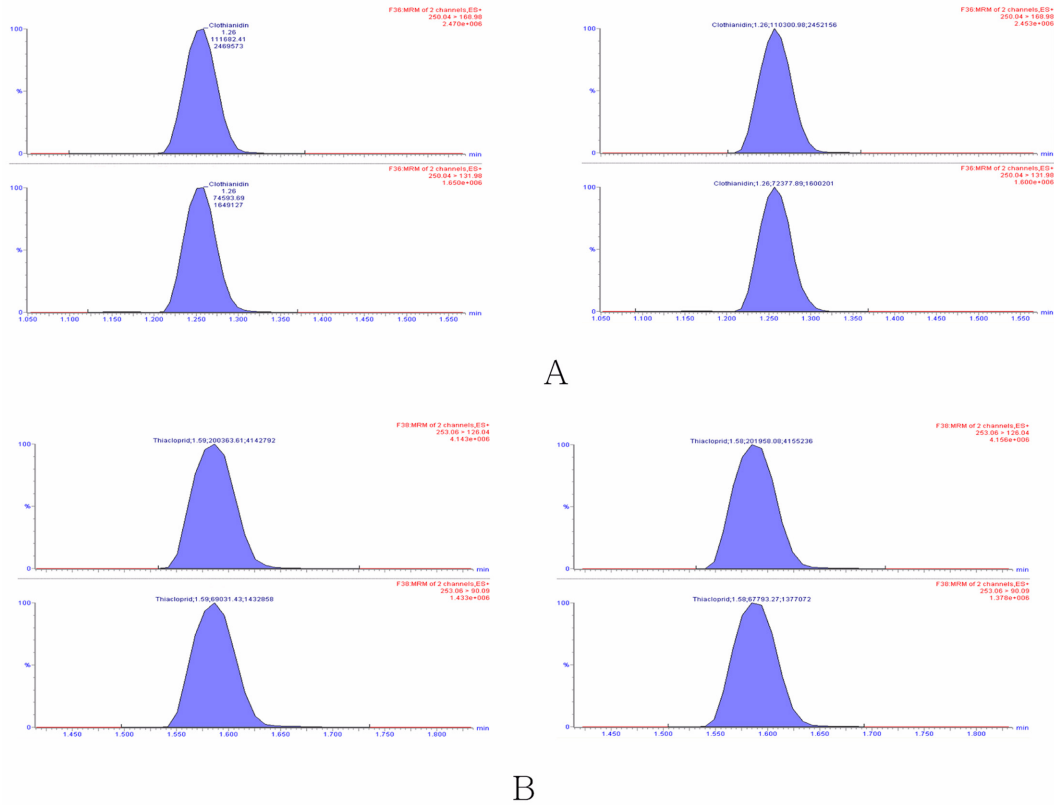


Fig. 1. Typical MRM profile of matrix standard solution at 0.1 mg/kg (A; Clothianidin, B; Thicloprid).

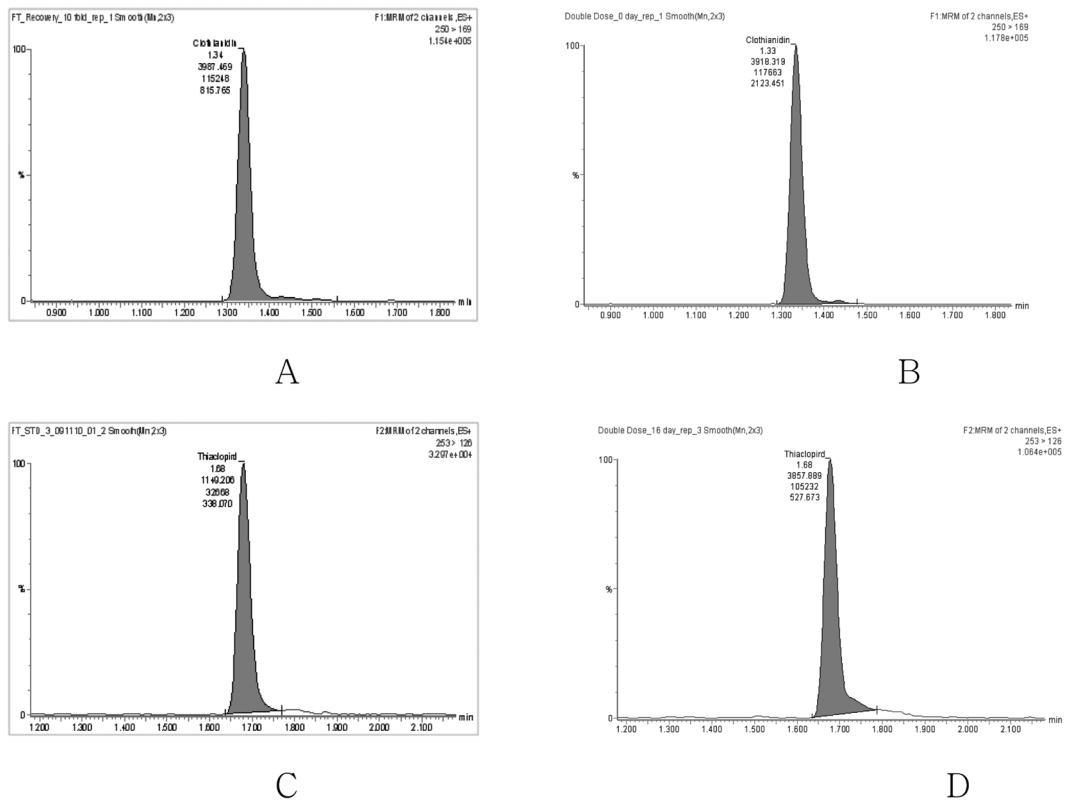


Fig. 1. Typical MRM profile of ginseng sample at 0.1 mg/kg (A; Clothianidin, C; Thiacloprid and recovery, B; Clothianidin (0.2 mg/kg), D; Thiacloprid (0.5 mg/kg)).

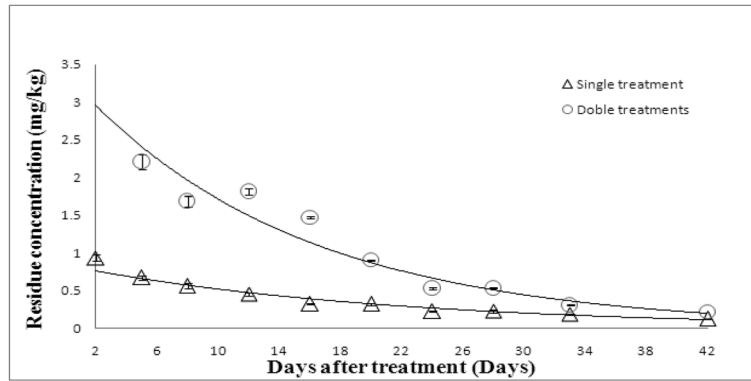


Fig 2. Dissipation of clothianidin on ginseng during cultivation period.

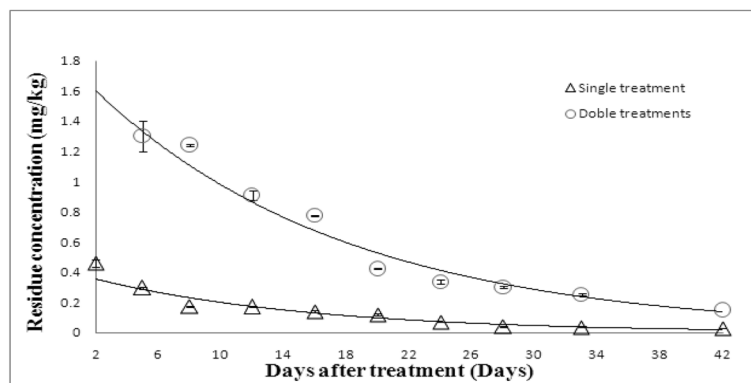


Fig 3. Dissipation of thiacloprid on ginseng during cultivation period.

회수율은 86.5~97.6%, 변이율은 4.9~6.2%로 두 성분 모두 식품공전(2009)에서 권고하는 회수율 70~120%, 변이계수 10% 이내의 수준을 만족하여 분석방법의 효율성을 입증하였다. 검출한계(LOD; Limit of Detection)는 기기분석시 크로마토그램에서 peak로 검출할 수 있는 한계농도를 의미하는 것으로 크로마토그램 상에서 S/N (signal/noise)비가 3이상 나타내는 성분의 농도로 두 성분 모두 0.01 ng 이었다. 인삼에 의한 Matrix effect 확인 결과 matrix에 의한 영향은 없었으며(Fig. 1), clothianidin의 머무름시간은 약 1.4 분이었고, thiacloprid은 약 1.6 분이였다(Fig. 2).

인삼 재재기간 중 잔류량 변화

인삼 재배시 clothianidin 및 thiacloprid를 기준량과 배량으로 살포한 후 일정 간격마다 시험농약의 잔류량을 측정하여 잔류량 변화를 살펴보았다. Clothianidin에서 기준량의 경우 초기 잔류농도는 0.571 mg/kg, 배량은 1.004 mg/kg 으로 나타났다. 또한 약제 살포 후 2일차에 0.935 mg/kg, 배량의 경우 약제 살포 후 5일차에 2.209 mg/kg 으로 최대농도를 나타내었으며, 이후 잔류량은 감소하는 경향을 나타내었다. 이와 같이 초기 잔류농도보다 기준량은 2일, 배량은 5일에서 잔류량이 높은 것은 인삼의 경우 살포 후 일정시간동안 뿌리로 흡수되는 경향을 나타내고 있으며, 이는 뿌리작

물의 특성에 기인한 것으로 판단된다. 약제 살포 후 42일차에 기준량은 0.124 mg/kg, 배량은 0.211 mg/kg 이었다. 약제 살포 후 11회에 걸쳐 시료를 채취하여 나타난 농약의 경시적 잔류량 변화는 Fig. 2와 같다. 이를 바탕으로 회귀식을 산출하여 반감기를 산출한 결과 clothianidin의 재배 중 생물학적 반감기는 기준량과 배량 처리시 각각 14.6일, 10.2일 이었다.

Thiacloprid에서 기준량의 살포시 초기 잔류농도는 잔류농도는 기준량의 경우 0.373 mg/kg, 배량은 0.916 mg/kg을 나타냈으며, 약제 살포 후 2일차에 0.459 mg/kg, 배량의 경우 약제 살포 후 5일차에 1.301 mg/kg 이었다. 약제 살포 후 42일차에 기준량은 0.026 mg/kg, 배량은 0.149 mg/kg이었다. 약제 살포 후 11회에 걸쳐 시료를 채취하여 나타난 농약의 경시적 잔류량 변화는 Fig. 3과 같다. 이를 바탕으로 회귀식을 산출하여 반감기를 산출한 결과 thiacloprid의 재배 중 생물학적 반감기는 기준량과 배량 처리시 각각 9.7일, 11.2일로 이었다.

인삼의 증체율에 의한 Clothianidin 및 Thiacloprid의 희석 효과

농약의 작물잔류성은 작물을 구성하고 있는 표면의 상태, 재배방법, 작물체 표면의 굴곡, 움모의 유무 및 증체율 등에

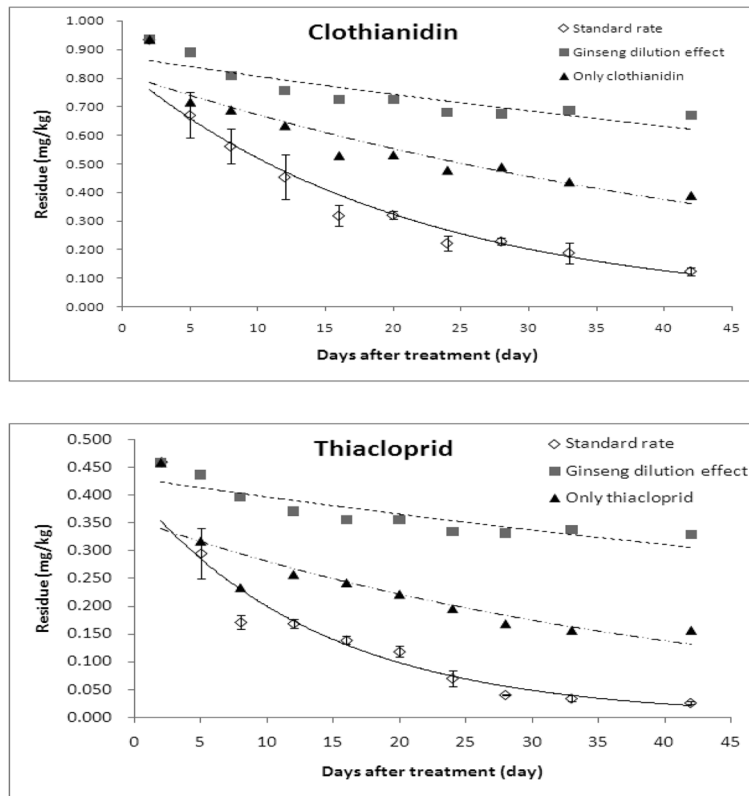


Fig 4. Dissipation of thiacloprid on ginseng during cultivation period.

Table 6. Pre-harvest residue limit of clothianidin and thiacloprid in ginseng

Pesticide	Pre-harvest residue limit ^{a)} (mg/kg)										
	10 day	9 day	8 day	7 day	6 day	5 day	4 day	3 day	2 day	1 day	Harvesting day
Clothianidin	0.30	0.29	0.28	0.26	0.25	0.24	0.23	0.23	0.22	0.21	0.2
Thiacloprid	0.18	0.17	0.16	0.15	0.14	0.13	0.13	0.12	0.11	0.11	0.1

^{a)} Calculation by SefeQ-in program of NAQS.

의해 많은 영향을 받으므로 증체율에 따른 잔류량을 확인하는 것이 필수적이다(Lee 등, 2004).

본 실험에서 인삼의 시험약제 살포일로부터 마지막 수확까지 시료 무게를 측정된 결과, 약 1.5배 정도의 무게가 증가하였다. 이 결과를 바탕으로 clothianidin 과 thicloprid의 1회 처리를 기준으로 일자별 잔류농도와 인삼의 무게 변화를 고려하여 증체량에 따른 희석효과를 보고자 하였다. 기준량 처리시 clothianidin과 thicloprid의 잔류감소곡선을 기준으로 비교해보면, 인삼 무게 증가에 따른 clothianidin과 thicloprid의 희석효과를 반영하였을 때 초기농도에 비해 42일차 시료에서 32.6%, 30.0%의 잔류량 감소가 나타났다. 이는 오이와 같이 부피생장이 급격히 일어나는 작물에 비해 증체율에 따른 희석효과는 매우 작고(Lee 등, 2008), 단감과 파프리카 같은 과종의 변화가 거의 없는 작물에 비해 증체율에 따른 희석효과는 다소 큰 경향을 보였다(Lee 등, 2012).

한편, 희석효과를 배제하여 약제만의 잔류량을 반영하였을 때는 67.4%, 70.0% 감소하는 경향이 나타났다. 따라서 인삼의 증체율에 의한 clothianidin 및 thicloprid의 희석효과보다는 약제 자체의 반감기가 더 큰 요인으로 작용함을 알 수 있었다.

생산단계 잔류허용 기준의 산출

생산단계 잔류허용 기준의 설정은 수확 시에 잔류량이 MRL을 초과하지 않도록 수확 전 일자별 잔류량을 설정한 수치로서 이를 이용하여 생산단계 잔류허용 기준을 작성하였다. 이를 이용하여 생산단계 잔류허용기준을 설정한다면 각각 수확 10일전 잔류량이 clothianidin은 0.30 mg/kg, thiacloprid는 0.18 mg/kg이면 수확 시 잔류농도가 MRL 이하로 잔류할 것으로 예측된다. 농약의 안전사용기준을 준수해 적기에 약제를 처리하고 기준 출하일에 농작물을 출하한

다면, 농약잔류허용기준을 상향하는 부적합 농산물이 생산되지 않을 뿐만 아니라, 소비자들의 식품안전성에 대한 우려를 줄일 수 있을 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구결과는 2009년 생산단계 농산물의 농약잔류허용기준 설정연구 결과의 일부이며, 연구비를 지원해주신 국립농산물품질관리원에 감사드립니다.

Literature Cited

Kim, Y. S., J. H. Park, J. W. Park, Y. D. Lee, K. S. Lee and J. E. Kim (2002) Persistence and dislodgeable of chlorpyrifos and procymidone in lettuce leaves under greenhouse condition. *Korea Journal of Environmental Agriculture*. 21(2):149~155.

Ko, K. Y., Y. J. Lee, D. J. Won, H. J. Park and K. S. Lee (2003) Residual pattern of procymidone and bifenthrin in perilla leaf during the period of cultivation and storage. *Korea Journal of Environmental Agriculture*. 22(1):47~52.

Ko, K. Y., K. H. Kim and K. S. Lee (2004) Residual Pattern of Procymidone and Chlorothalonil in grape during the period of cultivation and stroage. *Korea Journal of Environmental*

Agriculture. 23(1):47~51.

Lee, E. Y., H. H. Noh, Y. S. Park, K. W. Kang, J. K. Kim, Y. D. Jin, S. Y. Yun, C. W. Jin, K. T. Han and K. S. Kyung (2009) Residual charateristics of etofenprox and methoxyfenozide in chinese cabbage. *The Korea Journal of Pesticide Science*. 13(1):13~20.

Lee, H. D., K. S. Kyung, H. Y. Kwon, Y. B. Lim, J. B. Kim, S. S. Park and J. E. Kim, (2004) Residue characteristics of hexaconazole and chlorothalonil in several fruits. *The Korea Journal of Pesticide Science*. 8(2):107~111.

Lee, J. H., H. W. Park, Y. S. Keum, C. H. Kwon, Y. D. Lee and J. H. Kim (2008) Dissipation pattern of boscalid in cucumber under greenhouse condition. *The Korea Journal of Pesticide Science*. 12(1):67~73.

Lee, D. Y., Y. J. Kim, S. J. Lee, K. S. Cho, S. G. kim, M. H. Park and K. Y. Kang (2012). Establishment of pre-harvest residue limit of fungicides pyrimethanil and trifloxystrobin during cultivation of persimmon. *Korea Journal of Environmental Agriculture*. 31(1):45~51.

Ministry of Food and Drug Safety (2013) Maximun residue limits for pesticides in foods.

Ministry of Food and Drug Safety (2013) Pre-harvest residue limits for pesticides in agricultural products, 2013-92.

Tomlin. C (2009) *The pesticide manual: A world compendium (Fifteenth Edition)*. pp. 229, 1111.

● ●

인삼 중 Clothianidin 및 Thiacloprid의 생산단계 농약잔류허용기준 설정

나은식¹ · 이용재¹ · 김경주¹ · 김성수¹ · 이규승^{2*}

¹(주)한국인삼공사 안전성연구소, ²충남대학교 농업생명과학대학 생물환경화학과

요 약 본 연구는 인삼 재배 중 사용되는 clothianidin과 thiacloprid의 생산단계 잔류허용기준 설정을 통하여 안전한 인삼 생산에 기여하고자 수행되었다. 먼저, clothianidin과 thiacloprid을 살포하고, 살포 후 0, 2, 5, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 33, 42일의 총 11회에 걸쳐 인삼 시료를 채취하여 각각의 농약을 분석하고 생물학적 반감기를 산출한 다음 생산단계 잔류허용기준(PHRL)을 설정하였다. 인삼 중 clothianidin과 thiacloprid은 acetonitrile을 이용하여 추출하여 UPLC/TQD로 분석하였다. 두 농약에서 검출한계는 모두 0.01 mg/kg이었다. Clothianidin의 회수율은 0.2 mg/kg 과 1.0 mg/kg 두 수준에서 각각 108.6 ± 5.4%, 100.4 ± 1.1%이었으며, thiacloprid의 회수율은 0.5 mg/kg과 2.5 mg/kg 수준에서 각각 93.4 ± 4.9%, 91.1 ± 6.2%이었다. 인삼에서 clothianidin의 생물학적 반감기는 기준량 살포 시 14.6일, 배량 살포시 10.2일 이었고, thiacloprid의 생물학적 반감기는 기준량 살포 시 9.7일, 배량 살포시 11.2일이었다. 잔류회귀 감소식을 이용한 생산단계 잔류허용기준은 clothianidin과 thiacloprid은 각각 수확 10일 전 0.30 mg/kg과 0.18 mg/kg으로 제안하였다.

색인어 생물학적반감기, 클로티아니딘, 치아클로프리트, 생산단계 잔류허용기준

